

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-230939

(43)Date of publication of application : 27.08.1999

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

G01N 21/64

(21)Application number : 10-051490

(71)Applicant : RIKAGAKU KENKYUSHO
SHIMADZU CORP

(22)Date of filing : 16.02.1998

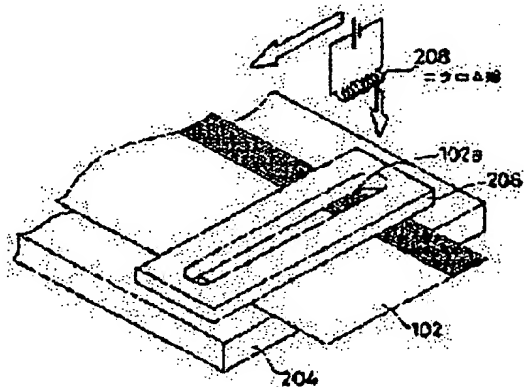
(72)Inventor : HAYASHIZAKI YOSHIHIDE
YAMAMOTO RINTARO

(54) CAPILLARY CASSETTE AND ITS MANUFACTURE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To reduce time for forming a window for detection, and at the same time to form the window for detection that can perform accurate detection.

SOLUTION: In a manufacturing method, capillary columns 102 adhere one another for forming a line on a flat plate 204 so that a region 102a that is intended to form a window for detection is positioned on the long hole of the flat plate 204, the long hole of a flat plate 206 is placed so that it is positioned in the region 102a that is intended to form the window for detection, and the capillary columns 102 are put between the flat plates 204 and 206 for fixing. The longitudinal direction of a heated Nichrome wire coil 208 is brought into contact with the end part of the region 102a that intended to form the window for detection via the long hole of the flat plate 206 while orthogonally crossing to the capillary column 102, and a covering is burned for eliminating. The Nichrome wire coil 208 is moved along the long hole of the flat plate 206 while one part of the contact region of the Nichrome wire coil 208 is overlapped so that the covering does not remain in the region 102a that intended to form the window for detection. At this time, the covering on the surface of an opposite side where the Nichrome wire coil 208 is brought into contact is also eliminated.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japanese Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-230939

(43)公開日 平成11年(1999) 8月27日

(51)Int.Cl.⁹

G 0 1 N 27/447

21/64

識別記号

F I

G 0 1 N 27/26

21/64

27/26

3 1 5 K

Z

3 2 5 A

3 3 1 E

3 3 1 J

審査請求 未請求 請求項の数3 F D (全 5 頁)

(21)出願番号

特願平10-51490

(22)出願日

平成10年(1998) 2月16日

(71)出願人 000006792

理化学研究所

埼玉県和光市広沢 2 番 1 号

(71)出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地

(72)発明者 林崎 良英

茨城県つくば市高野台 3 丁目 1 番 1 理化学研究所 ライフサイエンス筑波研究センター内

(72)発明者 山本 林太郎

京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地

株式会社島津製作所三条工場内

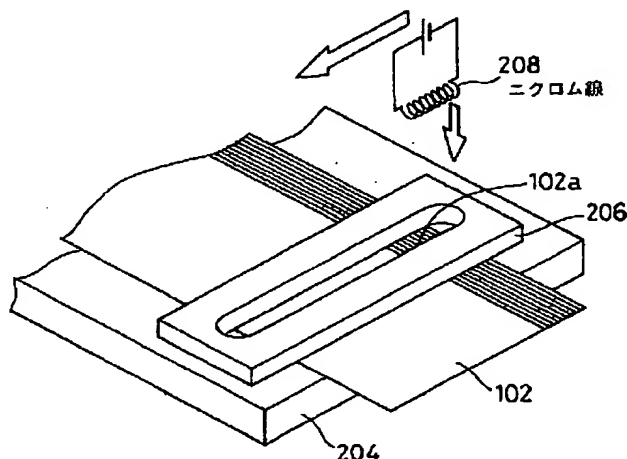
(74)代理人 弁理士 野口 繁雄

(54)【発明の名称】 キャピラリーカセットとその製造方法

(57)【要約】

【課題】 検出用ウインドウ形成時間を短縮し、かつ、正確な検出を行なうことができる検出用ウインドウを形成する。

【解決手段】 検出用ウインドウ形成予定領域 102a が平板 204 の長穴上に位置するようにキャピラリーカラム 102 を互いに密着させて平板 204 上に一列に並べ、その上から平板 206 の長穴が検出用ウインドウ形成予定領域 102a に位置するよう置き、両平板 204、206 でキャピラリーカラム 102 を挟んで固定する。平板 206 の長穴を介して、検出用ウインドウ形成予定領域 102a の端部に赤熱したニクロム線コイル 208 の長手方向がキャピラリーカラム 102 に直交するように接触させて被膜を燃焼して除去する。検出用ウインドウ形成予定領域 102a に被膜が残らないように、ニクロム線コイル 208 の接触領域を一部重ね合わせながら平板 206 の長穴に沿ってニクロム線コイル 208 を移動させていく。このとき、ニクロム線コイル 208 が接触する反対側の面の被膜も除去される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 マルチキャピラリー電気泳動装置において使用される複数本のキャピラリーカラムが試料注入側でホルダにより固定され、検出側で平面状に一行に配列されており、検出側のキャピラリーカラム配列にはキャピラリーカラムの被膜が除去されてキャピラリーカラム配列方向に延びる帯状の検出用ウインドウが形成されており、その検出用ウインドウの周辺ではキャピラリーカラムは互いに密着し被膜どうしが互いに融着してキャピラリーカラム配列が一体化されていることを特徴とするキャピラリーカセット。

【請求項2】 マルチキャピラリー電気泳動装置において使用される複数本のキャピラリーカラムが試料注入側でホルダにより固定され、検出側で平面状に一行に配列され、その検出側にはキャピラリーカラムの被膜が除去された検出用ウインドウが形成されているキャピラリーカセットの製造方法において、次の工程（A）及び（B）を含んで検出用ウインドウを形成することを特徴とするキャピラリーカセットの製造方法。

（A）キャピラリーカラムの試料注入側をホルダにより固定した後、そのキャピラリーカラムを平面状に互いに密着して一行に並べて保持する工程、

（B）保持されたキャピラリーカラム配列の検出用ウインドウ形成予定領域に、キャピラリーカラム複数本の長さをもつ加熱手段を接触させて複数本のキャピラリーカラムの被膜を除去するとともに、その被膜が除去された領域の周辺の被膜を熔融させた後に凝固させて隣接するキャピラリーカラムの被膜どうしが互いに融着させる工程。

【請求項3】 前記加熱手段の長さは検出側でのキャピラリーカラム配列の幅よりも短かく、前記工程（B）を前記キャピラリーカラム配列の幅方向に複数回繰り返す請求項2に記載のキャピラリーカセットの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はマルチキャピラリー電気泳動装置において使用される複数本のキャピラリーカラムが試料注入側でホルダにより固定され、検出側で平面状に一行に配列されたキャピラリーカセットとその製造方法に関し、特に検出側のキャピラリーカラム配列にはキャピラリーカラムの被膜が除去された検出用ウインドウをもつキャピラリーカセットとその検出用ウインドウを形成する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】電気泳動装置は核酸、タンパク質、ペプチド、糖などを分離分析するために使用されており、特に、DNAの塩基配列の解析には重要な役割を果たしている。人ゲノムのような長大な塩基配列をもつDNAの塩基配列決定には、高感度で、高速で、かつ大処理能力

をもった電気泳動装置が必要となる。その1つの方法として、平板状のスラブゲルを用いたものに代わってゲルを充填したキャピラリーカラムを複数本配列したマルチキャピラリー電気泳動装置が提案されている。キャピラリーカラムは、スラブゲルに比べて、試料の取扱いや注入が容易であるだけでなく、高速に泳動させて高感度で検出できる。つまり、スラブゲルで高電圧を印加すれば、ジュール熱の影響によりバンドが広がったり、温度勾配が生じるなどの問題が生じるが、キャピラリーカラムではそのような問題は少なく、高電圧を印加して高速泳動をさせても、バンドの広がりが少なく高感度検出ができるのである。

【0003】キャピラリーカラムは、機械的強度を高めるため、様々な被膜で保護されている。その被膜としては、ポリイミド、シリコン系樹脂、ポリテトラフルオロエチレン、アクリル系樹脂などが使用されている。しかし、電気泳動のキャピラリーカラムの被膜として使用する場合、キャピラリーカラム内を泳動する試料の検出に吸光度測定や蛍光測定などの光学的手段が用いられるため、被膜の光吸収や発蛍光性などの光学特性が検出の障害となる。したがって、検出部の被膜をライターやガスバーナーなどの燃焼手段を用いて炎により燃焼して除去している。また、複数本のキャピラリーカラムを使用し、複数の試料を同時に検出するマルチキャピラリー電気泳動装置においては、検出部の被膜を除去したキャピラリーカラムを揃えて並べ固定することにより検出用ウインドウを形成している。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】マルチキャピラリー電気泳動装置では多数のキャピラリーカラムが配列されるが、キャピラリーカラムの1本ずつに検出部の被膜除去を行なうと、その作業に多大の時間を要することになる。また、被膜材によっては、炎による燃焼により被膜材を除去する過程で、炎の内部に位置する部分は完全に燃焼して除去されるが、炎から離れた個所では熔融するものの除去されるまでには至らないため、被膜が除去された部分の両側に熔融した被膜が凝固して生じる凸部が形成されてしまうものがある。このような凸部が形成されると、キャピラリーカラムを配列し、被膜が除去された部分の位置を揃えて検出用ウインドウを形成したとき、隣接するキャピラリーカラムどうしが密着しなかったり、凸部のために段違いになって検出用ウインドウが平面状に揃わなかったりする。その結果、検出の際、光学系の焦点がずれてしまつて正確な検出を行なうことができないことがある。

【0005】本発明は、マルチキャピラリー電気泳動装置に用いるキャピラリーカラムの検出用ウインドウが光学的な測定に適するように平面状に形成されたキャピラリーカセットと、その検出用ウインドウ形成工程に特徴をもつキャピラリーカセットの製造方法に関するもので

ある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明のキャピラリーカセットは、複数本のキャピラリーカラムが試料注入側でホルダにより固定され、検出側で平面状に並列に配列されており、検出側のキャピラリーカラム配列にはキャピラリーカラムの被膜が除去されてキャピラリーカラム配列方向に延びる帯状の検出用ウインドウが形成されており、その検出用ウインドウの周辺ではキャピラリーカラムは互いに密着し被膜どうしが互いに融着してキャピラリーカラム配列が一体化されているものである。

【0007】そのキャピラリーカセットを製造する際に、本発明の製造方法は次の工程（A）及び（B）を含んで検出用ウインドウを形成する方法である。

（A）キャピラリーカラムの試料注入側をホルダにより固定した後、そのキャピラリーカラムを平面状に互いに密着して一列に並べて保持する工程、

（B）保持されたキャピラリーカラム配列の検出用ウインドウ形成予定領域に、キャピラリーカラム複数本の長さをもつ加熱手段を接触させて複数本のキャピラリーカラムの被膜を除去するとともに、その被膜が除去された領域の周辺の被膜を熔融させた後に凝固させて隣接するキャピラリーカラムの被膜どうしを互いに融着させる工程。

【0008】検出部の被膜除去をしていないキャピラリーカラムを平面状に並列に配列して固定し、加熱手段によって複数本のキャピラリーカラムの検出用ウインドウ形成予定位置の被膜除去を同時に行なう。複数本のキャピラリーカラムの被膜を同時に加熱して除去することにより、被膜が除去された領域から離れた位置では熔融した被膜が冷えて凝固する際に、隣接したキャピラリーカラムどうしが融着されて一体化される。これにより、一列に配列された複数本のキャピラリーカラムがフラットケーブル状になる。

【0009】

【発明の実施の形態】加熱手段としては、ニクロム線ヒータやセラミックヒータなどを用いることができる。被膜を除去するのに用いる加熱手段として、その長さが検出側でのキャピラリーカラム配列の幅よりも短かいものを使用する場合には、工程（B）をキャピラリーカラム配列の幅方向に複数回繰り返して検出用ウインドウを形成する。

【0010】

【実施例】複数本のキャピラリーカラムを配列した一実施例のキャピラリーカセットと、それが適用されるマルチキャピラリー電気泳動装置の概略斜視図を図1に示す。キャピラリーカセット2は複数本のキャピラリーカラム102が配列され、ホルダ4、6により固定されてキャピラリーアレイを構成したものであり、そのキャピラリーアレイの一端2aが試料注入側となってホルダー

4により二次元的に配列されて固定されており、試料注入後に泳動用のリザーバ62のバッファ液と接触する。そのキャピラリーアレイの末端2bはキャピラリーカラム102が一列に配列されており、先端でリザーバ56のバッファ液と接触する。キャピラリーアレイの末端側にはキャピラリーカラム102が一列に配列されてホルダー6により支持されている被検出部2cが設けられている。キャピラリーカラム102は破損から守るために被膜により被覆されている。キャピラリーカセット2には多数のキャピラリーカラム、例えば384本のキャピラリーカラムが配列されている。各キャピラリーカラム102には異なる試料がそれぞれ注入され、同時に電気泳動がなされる。

【0011】キャピラリーカセット2の被検出部2cではキャピラリーカラム102の被膜が除去されてキャピラリーカラム配列方向に延びる帯状の検出用ウインドウが形成されている。そして、その検出用ウインドウの周辺ではキャピラリーカラム102は互いに密着し被膜どうしが互いに融着してキャピラリーカラム配列が一体化されている。

【0012】試料自体又は試料を標識した蛍光物質を励起するための励起光源として、例えばアルゴンガスレーザ装置8が設けられている。10は励起・受光光学系であり、被検出部2cのキャピラリーカラム102に励起光のアルゴンレーザビームを照射し、試料からの蛍光を検出するものであり、走査機構（図示略）により、被検出部2cでのキャピラリーカセットの配列面に平行で泳動方向に直交する走査方向（キャピラリーカラム102の配列方向）に走査される。レーザ装置8からの励起光ビームが励起・受光光学系10の走査によってもずれないようにするために、ここでは一例としてレーザ装置8からのレーザビームがカップラーにより結合された光ファイバ9を経て励起・受光光学系10に導かれている。

【0013】下側のリザーバ62には泳動用バッファ液が入れられ、キャピラリーアレイの下端2aがそのバッファ液に浸され、そのバッファ液を通してキャピラリーカセット2の下端2aのキャピラリー端に泳動用電圧が印加される。上側のリザーバ56のバッファ液には上側電極54が浸されて接触し、下側のリザーバ62のバッファ液には下側電極58が浸されて接触し、両電極54、58には高圧電源60から泳動電圧が印加される。その電源電圧は例えば30kVで、電流容量は10～30mAである。泳動される試料はタンパク質試料や、蛍光物質で標識されたDNAフラグメント試料などである。

【0014】キャピラリーカセット2で被検出部2cの位置に検出用ウインドウを形成する本発明の製造方法の一実施例を図2を参照にして説明する。

（A）384本の被膜除去を行なっていないキャピラリーカラム102の試料注入側をホルダにより固定した

後、他端側、すなわち検出側を互いに密着させて平板 204 の平面状に並べる。平板 204 には被膜除去作業による被膜の熔融により平板 204 にキャピラリーカラム 102 が付着するのを防止するために、キャピラリーカラム 102 の配列幅よりも長い長穴が開けられており、その長穴上に検出用ウインドウ形成予定領域 102a がくるように位置決めする。

【0015】(B) キャピラリーカラム 102 上にさらに他の平板 206 を重ねる。平板 206 にもキャピラリーカラム 102 の配列幅よりも長い長穴が開けられており、その長穴が検出用ウインドウ形成予定領域 102a にくるように位置決めする。このように、キャピラリーカラム 102 を 2 つの平板 204、206 に挟んで固定する。

【0016】(C) 被膜を燃焼するためのニクロム線コイル 208 に電流を流してそれを赤熱させる。ニクロム線コイル 208 は直径 0.5 mm のニクロム線 40 cm を直径 3 mm、長さ 2 cm 程度のコイル状に巻いたものである。通電量は例えば 5 A である。平板 206 の長穴を介して、検出用ウインドウ形成予定領域 102a の端部に、ニクロム線コイル 208 の長手方向がキャピラリーカラム 102 の配列方向（キャピラリーカラム 102 の長手方向と直交する方向）になるように向けて、赤熱したニクロム線コイル 208 をキャピラリーカラム 102 に接触させる。

【0017】(D) ニクロム線コイル 208 をキャピラリーカラム 102 に 10 秒間ほど接触させてその位置の被膜を燃焼させて除去した後、検出用ウインドウ形成予定領域 102a に被膜が残らないように、ニクロム線コイル 208 を接触させる領域を一部重ね合わせながら、検出用ウインドウ形成予定領域 102a の他端部方向に向って、ニクロム線コイル 208 を平板 206 の長穴に沿って移動させていく。このとき、ニクロム線コイル 208 が接触する面と反対側の面の被膜も燃焼して除去される。

【0018】燃焼時にニクロム線コイル 208 から離れた位置で熔融したそれぞれのキャピラリーカラム 102 の被膜が冷えて凝固する際に、一度熔融した被膜により隣接するキャピラリーカラム 102 どうしが融着する。これにより、一列に配列された複数本のキャピラリーカラム 102 全体がフラットケーブル状になる。

【0019】実施例では加熱手段としてコイル状のニクロム線を使用した。加熱手段としては他に細長いセラミックヒータなども使用することができる。カセットホルダに固定するキャピラリーカラムの数が多い場合、キャピラリーカラムを平面状に一列に並べたときの幅は大きくなる。そこで、被膜の除去に要する時間を短縮するためにニクロム線コイルを長くすると、その強度が弱く

なり、キャピラリーカラムに押し当てて検出用ウインドウを作成しているうちに、ニクロム線コイルは曲がって変形し、平面状に並べられたキャピラリーカラムとうまく接触できなくなり、燃焼作業を何度も繰り返して行なう必要が生じることがある。そのような場合には、キャピラリーカラムを平面状に一列に並べたときの幅より長いセラミックヒータを使用すると、一度で検出用ウインドウを形成することが可能となるので、検出用ウインドウ形成時間を短縮することができる。

【0020】

【発明の効果】本発明のキャピラリーカセットでは、検出用ウインドウの周辺でキャピラリーカラムが互いに密着し被膜どうしが互いに融着してキャピラリーカラム配列が一体化されているので、検出用ウインドウが平面状に揃い、検出の際の光学系の焦点がずれることがなくなり、正確な検出を行なうことができる。本発明の製造方法では、複数本のキャピラリーカラムを平面状に並べた後、複数本のキャピラリーカラムの検出部の被膜を同時に除去するので、一本ずつのキャピラリーカラムについて被膜を除去する場合に比べると、検出用ウインドウ作成時間の大幅な短縮ができる。また、本発明の製造方法により形成された検出用ウインドウの周辺部では、熔融したが除去されるに至らなかった被膜が冷えて凝固する際に隣接するキャピラリーカラムどうしを融着する。融着される複数本のキャピラリーカラムは、予め平面状に並べられているので、融着後は検出用ウインドウを平面状に保つことになり、本発明のキャピラリーカセットを容易に製造することができる。さらに、複数本のキャピラリーカラムの検出側を固定する際、1 本ずつ固定する手間を省くとともに、接着剤を用いて固定するものでもない。接着剤が乾く時間を省くことができる。このように、本発明はマルチキャピラリー電気泳動装置に用いるキャピラリーカラムの検出用ウインドウ形成に要する時間を短縮し、かつ、正確な検出を行なうことができる検出用ウインドウを形成することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 一実施例のキャピラリーカセットと、それが適用されるマルチキャピラリー電気泳動装置を示す概略斜視図である。

【図 2】 製造方法の一実施例の最終工程を示す概略斜視図である。

【符号の説明】

2 キャピラリーカセット
102 キャピラリーカラム
102a 検出用ウインドウ形成予定領域
204、206 平板
208 ニクロム線コイル

【図2】

